

ПРИМЕНЕНИЕ ФТОРСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ В КАЧЕСТВЕ ВНУТРЕННИХ СТАНДАРТОВ ПРИ АНАЛИЗЕ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Е.С.Бродский, Н.А.Клюев, В.Л.Русинов*, Е.Н.Уломский*.
Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н.Северцова РАН
117071, Москва, Ленинский пр. 33

*Уральский Государственный технический университет,
620002, Екатеринбург, пр.Мира, 19

Бродский Ефим Соломонович - ведущий научный сотрудник лаборатории аналитической экотоксикологии Института проблем экологии и эволюции им.А.Н.Северцова РАН (ЛАЗ ИПЭЭ РАН), кандидат химических наук.

Область научных интересов: молекулярная масс-спектрометрия, хромато-масс-спектрометрия, аналитические исследования нефтей и объектов окружающей среды.

Автор более 350 публикаций и трех монографий.

Клюев Николай Алексеевич - заведующий ЛАЗ ИПЭЭ РАН, кандидат химических наук.

Область научных интересов: теоретическая органическая химия, молекулярная масс-спектрометрия, хромато-масс-спектрометрия, аналитические исследования в области медицины и экологии.

Автор более 450 публикаций и около 30 изобретений.

Русинов Владимир Леонидович - профессор кафедры органической химии Уральского Государственного технического университета (УГТУ-УПИ), доктор химических наук.

Область научных интересов: синтез новых полиазотистых гетероциклических соединений, исследование механизмов их образования.

Автор более 200 печатных работ, около 50 изобретений, 1 монография

Уломский Евгений Нарциссович - доцент кафедры органической химии УГТУ -УПИ, кандидат химических наук.

Область научных интересов: химия гетероциклических и природных соединений, медицинская химия.

Автор более 40 научных публикаций и 10 изобретений.

Показана возможность создания системы фторсодержащих внутренних стандартов для многокомпонентного определения органических загрязнителей в объектах окружающей среды.

Проблема анализа объектов окружающей среды связана с большим разнообразием состава определяемых органических загрязнителей. Номенклатура определяемых показателей включает более 1300 наименований для питьевой воды [1], около 2000 соединений в воздухе населенных мест [2] и около 3000 веществ в воздухе рабочей зоны предприятий [3].

В основе всех предпринимаемых мер по снижению и предотвращению загрязнения экосфе-

ры лежит контроль за содержанием ксенобиотиков (система инспекции государственного экологического контроля (СИГЭКА) и анализа на территории РФ [4]). Существующие в настоящий момент аттестованные методики для СИГЭКА охватывают лишь 40% подлежащих контролю загрязнителей, поэтому естественна тенденция привлекать к задачам СИГЭКА комбинированные методы, позволяющие анализировать сразу несколько групп ксенобиотиков. Все большее рас-

пространение получают методы хроматографии (ГЖХ и ВЭЖХ) и их комбинации - ГЖХ/ИК-Фурье, ГЖХ/МС, ВЭЖХ/МС, как наиболее чувствительные, эффективные и информативные методы количественного химического анализа (КХА). При проведении КХА необходимо осуществление оперативного и статистического контроля метрологических характеристик результатов измерений - воспроизводимости и точности.

Как правило, определение органических загрязнителей осуществляется с применением метода внутреннего стандарта. В качестве внутренних стандартов обычно используются соединения, по своей структуре подобные определяемым и имеющие близкие к ним физико-химические газохроматографические и масс-спектральные характеристики

Внутренние стандарты, используемые в анализе, бывают двух родов: стандарты-имитаторы (surrogate) и собственно внутренние стандарты. Внутренние стандарты-имитаторы служат для определения концентрации определяемых компонентов, моделируя их поведение в процессе пробоподготовки и анализа. Стандарты-имитаторы добавляются перед началом анализа в процессе пробоподготовки или при определенных процедурах пробоподготовки. Собственно внутренние стандарты служат для контроля всего процесса анализа - от качества пробоподготовки до работы аппаратуры, а также возможного разложения анализируемых лабильных ксенобиотиков.

Существуют два основных вида анализа, различающихся по методологии: 1) целевой (target) анализ, при котором определяются заранее заданные соединения, и 2) обзорный (review), при котором в анализируемой пробе помимо заданных или ожидаемых компонентов могут быть и неизвестные загрязнители [5-7].

В первом случае в качестве внутренних стандартов применяются соединения, по структуре и свойствам максимально близкие к определяемым. Наиболее близкими являются изотопномеченные аналоги определяемых ксенобиотиков. Наиболее распространенные изотопномеченные стандарты - дейтерированные, меченные ^{13}C , ^{37}Cl и другие, выпускаемые исключительно зарубежными фирмами: Cambridge Isotope Lab. (США), Accu Standard (США), Wellington Lab. (Канада), Absolute Standards Inc. (США), Chem. Service Inc (Англия) и др. Метод изотопного разбавления, использующий такие стандарты, является наиболее точным [8]. Его применяют в анализе суперэкоотоксикантов - диоксинов, поли-

ароматических углеводородов, персистентных органических загрязнителей и др. [9].

При отсутствии изотопномеченных стандартов применяются другие соединения, по структуре и свойствам (растворимость, экстрагируемость, хроматографические и масс-спектральные характеристики) близкие к определяемым.

При обзорном анализе смесей в набор внутренних стандартов включаются соединения различных классов с разными свойствами, которые могли бы имитировать поведение этих классов соединений в процессе пробоподготовки. Этот набор стандартов не должен включать соединения, которые могут содержаться в реальных пробах. На наш взгляд, очень перспективным видом соединений, которые могут применяться в качестве внутренних стандартов, являются фторзамещенные аналоги определяемых ксенобиотиков. По своим свойствам - хроматографическим и масс-спектральным характеристикам - они близки к соответствующим ксенобиотикам и редко встречаются в природной среде.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Синтез и физико-химические и спектроскопические свойства 2-фторсодержащих полихлорированных дибензо-*p*-диоксинов описаны в работах [10-12].

Способы получения других фторсодержащих соединений следующие:

Фторбензол.

А. В стакан, содержащий 20 мл воды и 18 мл концентрированной соляной кислоты помещают 13 г (0,1 моль) гидрохлорида анилина и охлаждают до 0°C. При перемешивании в течение 20 мин. прибавляют раствор 7 г (0,1 моль) нитрита натрия в 20 мл воды, поддерживая температуру не выше 5°C. После 15-минутной выдержки к реакционной массе прибавляют раствор 12 г (1,1 моль) тетрафторбората натрия в 30 мл воды.

Б. Выпавший осадок отфильтровывают и последовательно промывают ледяной водой, этанолом и эфиром порциями по 20 мл.

В. Осадок после высушивания помещают в перегонный прибор, колбу с веществом нагревают на открытом пламени до прекращения выделения трифторида бора (необходима сильная тяга). Фторбензол промывают порциями воды, 10%-ного раствора едкого натра и снова воды, сушат прокаленным хлоридом кальция и перегоняют, собирая фракцию, кипящую в пределах 84-85°C. Выход 4,8-5,4 г (50-56 %).

***n*-Фторфенол.**

Диазотирование 10,9 г (0,1 моль) *n*-аминофе-

нола проводят аналогично части "А" для фторбензола.

Б. К полученной реакционной массе добавляют 5 г полухлористой меди и перемешивают 2 часа при 80-90°C. После охлаждения льдом полученный продукт отфильтровывают и сушат. Выход 7 г (71 %).

1-Фторнафталин.

Получают аналогично из 14 г (0,1 моль) 1-нафтиламина и 27 мл соляной кислоты с выходом 40 % (Т кип. 215°C).

4,4'-Дифторбифенил.

Получают аналогично из 25,5 г (0,1 моль) дигидрохлорида бензидина с выходом 65 %. Тпл= 92-93°C (после перекристаллизации из этанола). Из соответствующего дигидробромида бензидина аналогично получают 4,4'-дибромбифенил.

Масс-спектры электронного удара получены на хромато-масс-спектрометре модели ITD-800 фирмы "Финниган" при энергии ионизирующих электронов 70 эВ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для определения диоксинов (ПХДД и ПХДФ) в объектах окружающей среды, жировых тканях, технических и биологических материалах и др. разработан набор фторсодержащих ПХДД [10, 11], который, в частности, очень удобен при определении ПХДД и ПХДФ методами ХМС низкого разрешения и ГХ-ЭЗД.

Ввиду крайне малого содержания ПХДД и ПХДФ в анализируемых объектах и наличия большого количества мешающих соединений их определение, как правило, производится с помощью сочетания ГХ/МС высокого или низкого разрешения с использованием внутренних стандартов. При хромато-масс-спектрометрическом определении обычно применяют ПХДД, меченые стабильными изотопами. В методике определения диоксинов, принятой Агентством по охране окружающей среды США (US EPA Method 1613, April 1990) и основанной на применении сочетания капиллярной газовой хроматографии и масс-спектрометрии высокого разрешения, рекомендуется использовать набор внутренних стандартов, меченых стабильным изотопом углерода ¹³C налогов, определяемых 2, 3, 7, 8-хлорзамещенных dibenzo-p-диоксинов и dibензофуранов, которые добавляют к пробе перед экстракцией и на различных стадиях очистки. Такой набор стандартов используется для оценки эффективности экстракции и контроля всех стадий процесса выделения, очистки и детектирования определяемых соединений.

Однако выбор таких стандартов ограничен. Конгенеры диоксинов, меченые стабильными изотопами, дороги, сравнительно малодоступны и не могут использоваться в ГЖХ с ЭЗД или фотоионизационным детектором, в ВЭЖХ с УФ или люминесцентным детектором и др. из-за отсутствия различий во временах выхода с колонки хроматографа. Применять же в качестве внутренних стандартов какие-либо из изомеров ПХДД нежелательно, так как не исключена возможность того, что они могут встретиться в анализируемых объектах [12].

Фторсодержащие ПХДД могут служить внутренними стандартами для определения ПХДД и ПХДФ при газохроматографическом и хромато-масс-спектрометрическом анализе объектов окружающей среды и других материалов. Имеется набор ГСО состава растворов 2-фторзамещенных полихлорированных dibenzo-p-диоксинов, который включает:

- 2-фтор-3, 7, 8-трихлордibenzo-p-диоксин (FD-1, ГСО 7158-95)
- 2-фтор-6, 7, 8, 9-тетрахлордibenzo-p-диоксин (FD-2, ГСО 7159-95)
- 2-фтор-3, 4, 6, 7, 8, 9-гептахлордibenzo-p-диоксин (FD-3, ГСО 7160-95)
- 2-трифторметил-3, 7, 8-трихлордibenzo-p-диоксин (FD-4, ГСО 7161-95)

Эти соединения имеют молекулярные массы, не совпадающие с молекулярными массами ПХДД, что позволяет легко отличать их от ПХДД при масс-спектрометрическом детектировании. Набор фторзамещенных ПХДД с разной степенью хлорирования позволяет покрыть весь интервал времен удерживания определяемых ПХДД и ПХДФ (0,861-FD-4; 0,975-FD-2; 0,714-FD-1; 1,405-FD-3) по отношению к 2,3,7,8-ТХДД. Времена удерживания этих соединений при газохроматографическом разделении отличаются от времен удерживания соответствующих ПХДД и ПХДФ, что позволяет детектировать их в виде отдельных хроматографических пиков в методе ГЖХ-ЭЗД. В то же время они имеют структуру, аналогичную структуре ПХДД, и по основным физико-химическим характеристикам близки к ним.

Гидрофобность фторзамещенных диоксинов близка к гидрофобности ПХДД с таким же количеством атомов хлора в молекуле. Результаты определения эффективности экстракции фторсодержащих диоксинов из различных матриц (вода, грунт, донные осадки) показывают, что эффективность экстракции фторзамещенных диоксинов практически не отличается от эффективности экстракции диоксинов с таким же количе-

ством атомов хлора в молекуле.

Токсикологическая оценка, проведенная на нелинейных белых мышах при внутрижелудочной аппликации показала, что соединения, содержащие атом фтора в латеральном положении диоксинового цикла, введенные в дозах от 10 до 50 мг/кг не проявляют токсического действия. Следовательно, LD_{50} для данных 2-фтор-полухлорированных дибензо-п-диоксинов составляет более 50 мг/кг, что значительно ниже токсичности ПХДД, содержащих атомы хлора в латеральных положениях, и соответствует токсичности хлорсодержащих пестицидов [12].

Результаты анализа, полученные с использованием фторзамещенных диоксинов, не отличаются от полученных с использованием изотопномеченных стандартов [10, 11].

Фторзамещенные диоксины в качестве внутренних стандартов использовались при изучении растворимости 2,3,7,8-ТХДД в воде в присутствии фталоцианинов, элюировании конгенов диоксина с SiO_2 и почвы [13], а также при извлечении диоксинов из почв водой в субкритических условиях [14].

При определении полихлорированных бифенилов (ПХБ) в объектах окружающей среды и других материалах, в тех случаях, когда они определяются в виде суммы соединений или определенных технических продуктов (Арохлоры, Совол, Совтол и др.), использование фторзамещенных ПХБ в качестве стандартов-имитаторов позволя-

ет адекватно оценивать эффективность экстракции, наличие потерь и дискриминации на разных стадиях очистки.

В обзорном анализе фторсодержащие соединения также очень перспективны для использования в качестве внутренних стандартов. В Уральском Государственном техническом университете (бывш. УПИ им. С.М.Кирова) синтезирован большой набор фторсодержащих органических соединений разного строения. Рекомендуемый набор внутренних стандартов для обзорного анализа и для определения ряда часто встречающихся загрязнителей окружающей среды включает следующие соединения: фторбензол, фторфенол, фторнафталин, дифторбифенил, 2,3,4-трифторанилин. Набор этих соединений вместе с 1-фенилдеканом и 4,4'-дибромбифенилом содержит компоненты различного строения, с разной полярностью и летучестью (табл.). 1-фенилдекан служит внутренним стандартом (recovery), по которому рассчитываются коэффициенты чувствительности для различных ксенобиотиков при проведении КХА [15]. Такая смесь позволяет моделировать эффективность экстракции нейтральных, кислотных и основных соединений, иметь пики внутренних стандартов в разных местах хроматограммы при разных временах удерживания (см. рис.). Основные масс-спектральные характеристики этих соединений приведены в таблице.

Таблица

Основные масс-спектральные характеристики фторсодержащих соединений, используемых в качестве внутренних стандартов (в скобках приведены относительные интенсивности к J_{\max} .)

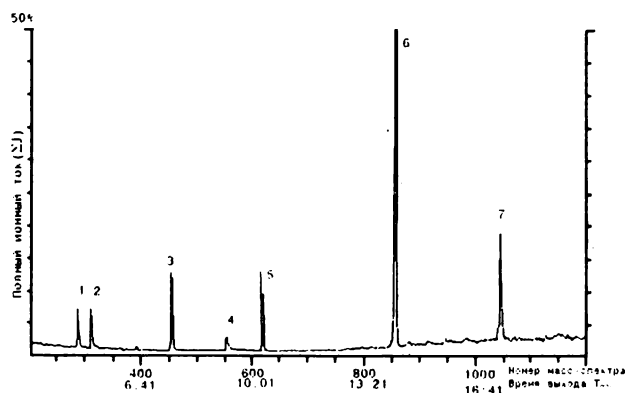
Соединение	Формула	Молек.масса	Основные ионы в масс-спектре
Фторбензол	C_6H_5F	96	96(100); 76(9)
4-фторфенол	FC_6H_4OH	112	112(100); 84(90); 83(75); 64(60); 63(38); 50(16)
1-фторнафталин	$C_{10}H_8F$	146	146(100); 126(15); 99(10); 63(10); 50(12)
4,4'-дифторбифенил	$C_{12}H_8F_2$	190	190(100); 189(35); 188(13); 170(13); 164(5); 131(3)
2,3,4-трифторанилин	$C_6H_2F_3NH_2$	147	147(100); 127(12); 120(60); 119(30); 101(25); 100(35); 99(18); 108(9); 107(10); 76(17); 75(20); 70(25); 69(20)

Все эти вещества имеют интенсивный пик молекулярного иона (максимальный пик в масс-спектре) и хорошо обнаруживаются на масс-хро-

матограммах по полному ионному току и по отдельным характерным ионам.

Набор этих соединений применялся нами в

течение трех лет для анализа органических загрязнителей в объектах окружающей среды – воде.



Масс-хроматограмма смеси внутренних стандартов (по полному ионному току): 1 - 2,3,4-трифторанилин; 2 - фторбензол; 3 - 1-фторнафталин; 4 - 4-фторфенол; 5 - 4,4'-дифторбифенил; 6 - 1-фенилдекан; 7 - 4,4'-дибромбифенил.

почве, донных отложениях и обеспечивал возможность оценки концентрации соединений разных классов.

Фторбензол и п-фторфенол использовались в качестве внутренних стандартов при разработке методики экспрессного определения фенола, его алкил-, хлор- и нитропроизводных в сточных водах с применением ВЭЖХ с УФ-детектором [16].

Работа выполнена при поддержке фонда INTAS-96-1990.

ВЫВОДЫ

С целью совершенствования метрологического обеспечения современных методов контроля (ГЖХ, ВЭЖХ, ГЖХ/МС, ВЭЖХ/МС и др.) предлагается использовать набор внутренних стандартов, включающий фторзамещенные структурные аналоги органических ксенобиотиков.

ЛИТЕРАТУРА

- ГОСТ "Питьевая вода". Санитарные правила и нормы СанПиН 2.1.4.559-96. М.: Госкомсанэпиднадзор РФ. С.111.
- Исидоров В.А. // Органическая химия атмосферы. СПб.: Химия, 1992. С.287.
- Другов Ю.С., Родин А.А. // Газохроматографическая идентификация загрязнений воздуха, воды и почвы. СПб.: Изд. "Теза", 1999. С.623.
- Панева В.И. // Аналитика и контроль, 1999. №2. С.55.
- Бродский Е.С., Ключев Н.А. // Экологическая химия, 1994. Т.3, №1. С.49-57.
- Зенкевич И.Г. // Экологическая химия, 1993, Т.2, N.6, С. 287.
- Крылов А.И. // Ж. аналит.химии, 1995, Т.50, № 3, С.230.
- Хмельницкий Р.А., Бродский Е.С. // Масс-спектрометрия загрязнений окружающей среды. М.: Химия, 1990. 182 с.
- Ключев Н.А. // Ж. аналит.химии, 1996. Т.51, №2. С.163.
- Бродский Е.С., Ключев Н.А., Жильников В.Г., Головков В.Ф., Иванов К.К., Чернова И.Н. // Диоксины: экологические проблемы и методы анализа. Уфа, 1995. С.284.
- Ключев Н.А., Головков В.Ф., Чернов С.А., Бродский Е.С., Шуйский Г.М. // Хим. гетероцикл. соед., 1994. №7. С.902.
- Кунцевич А.Д., Головков В.Ф., Чернов С.А., Рембовский В.Р., Трошкин Н.М., Баулин С.И. // Докл. Рос. акад. наук, 1993. Т. 332. С.461.
- Сойфер В.С., Шелепчиков А.А., Ключев Н.А. // Аналитика и контроль, 1999. №1. С.41.
- Ключев Н.А., Сойфер В.С., Шелепчиков А.А., Руденко Б.А. // Экологическая химия, 1999 (в печати).
- Ключев Н.А., Бродский Е.С., Муренец Н.В., Тарасова О.Г., Жильников В.Г. // Водные ресурсы, 1993. Т.40, № 4. С. 479.
- Сойфер В.С., Ключев Н.А., Мальцева Г.В., Мещеряков С.В. // Анализ объектов окружающей среды. III Всероссийская конференция "Экоаналитика-98". Краснодар, 1998. С. 398.

* * * * *